

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-061346  
 (43)Date of publication of application : 07.03.1997

(51)Int.Cl. G01N 21/27  
 G01N 21/64  
 G02B 6/12

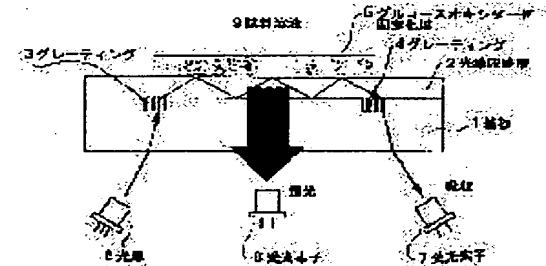
(21)Application number : 07-240901 (71)Applicant : NEC CORP  
 (22)Date of filing : 25.08.1995 (72)Inventor : SAITO ATSUSHI

## (54) PLANE LIGHT WAVEGUIDE PATH TYPE BIOCHEMICAL SENSOR

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a plane light waveguide type biochemical sensor with a high sensitivity and high accuracy.

SOLUTION: A light waveguide layer 2 is formed on a substrate 1, gratings 3, 4 are formed at both ends, and an enzyme glucose oxidase immobilized film 5 is formed on the surface of the light waveguide layer 2 as the molecule recognizing function and information converting function film. The light with the wavelength 488nm is fed to the grating 3 at a fixed angle from an argon laser light source 6, the incident light is absorbed by the enzyme glucose oxidase immobilized film 5 when it is propagated in the light waveguide layer 2, and it is sent out from the grating 4 at the other end. When the light intensity of the outgoing light is measured by a light receiving element 7, the glucose concentration in a sample solution can be measured.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 25.08.1995  
 [Date of sending the examiner's decision of rejection] 02.06.1998  
 [Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]  
 [Date of final disposal for application]  
 [Patent number] 3236199  
 [Date of registration] 28.09.2001  
 [Number of appeal against examiner's decision of rejection] 10-10022  
 [Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 30.06.1998  
 [Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-61346

(43)公開日 平成9年(1997)3月7日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

G 0 1 N 21/27  
21/64  
G 0 2 B 6/12

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 21/27  
21/64  
G 0 2 B 6/12

技術表示箇所

C  
Z  
Z

審査請求 有 請求項の数8 FD (全 9 頁)

(21)出願番号 特願平7-240901

(22)出願日 平成7年(1995)8月25日

(71)出願人 000004237

日本電気株式会社

東京都港区芝五丁目7番1号

(72)発明者 齊藤 敦

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株  
式会社内

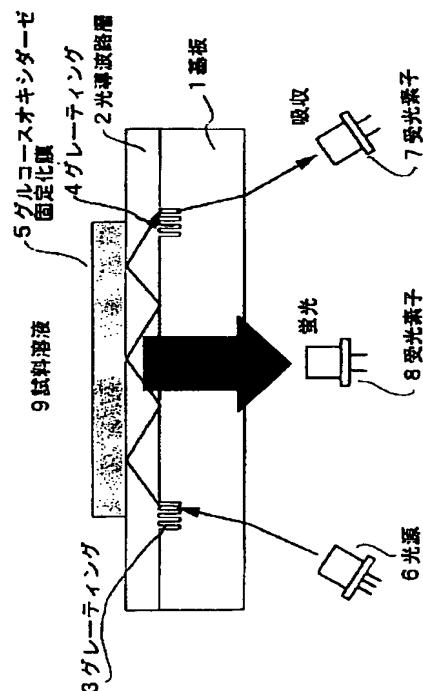
(74)代理人 弁理士 加藤 朝道

(54)【発明の名称】 平面光導波路型バイオケミカルセンサ

(57)【要約】

【課題】高感度かつ高精度な平面光導波路型バイオケミカルセンサの提供。

【解決手段】基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端にグレーティング3、4が形成され、光導波路層2の表面には分子認識機能及び情報変換機能膜として酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5が形成され、アルゴンレーザ光源6より波長488nmの光が一定の角度でグレーティング3に入射し、入射光は光導波路層2内を伝搬する際、酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5に吸収され、他端のグレーティング4から出射し、出射光の光強度を受光素子7により測定することにより、試料溶液中のグルコース濃度を測定する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】基板と、該基板上の両端部に形成されたグレーティングと、該基板上に形成された光導波路層と、該光導波路層の上に形成された分子認識機能及び情報変換機能を有する膜と、を含み、

前記グレーティングを通して前記光導波路層内に導入された光により発生するエバネッセント波の前記光導波路層表面の前記膜による吸収量を測定することを特徴とする平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項2】基板と、該基板上の両端部に形成されたグレーティングと、該基板上に形成された光導波路層と、該光導波路層の上に形成された分子認識機能及び情報変換機能を有する膜と、を含み、

前記グレーティングを通して前記光導波路層内に導入された光により発生するエバネッセント波によって前記光導波路層表面の前記膜より生じる蛍光の強度を測定することを特徴とする平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項3】基板と、該基板上の両端部に形成された第1、第2のグレーティングと、該基板上に形成された光導波路層と、該光導波路層の上に形成された分子認識機能及び情報変換機能を有する膜と、光源となる発光手段と、受光手段と、を含み、

前記膜の一端は試料を含む媒体に接して配設され、前記発光手段から前記第1のグレーティングを通して前記光導波路層内に光を導入し、前記光導波路層内に導入された光が前記第2のグレーティングを通して出力される光強度を前記受光手段で測定し、前記光導波路層を伝搬した光の吸収量に基づき前記試料の濃度を測定することを特徴とする平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項4】基板と、該基板上の両端部に形成された第1、第2のグレーティングと、該基板上に形成された光導波路層と、該光導波路層の上に形成された分子認識機能及び情報変換機能を有する膜と、光源となる発光手段と、受光手段と、を含み、

前記膜の一端は試料を含む媒体に接して配設され、前記発光手段から前記第1のグレーティングを通して前記光導波路層内に光を導入し、前記光導波路層内に導入された光を介して前記膜より生じる蛍光の強度を測定し、前記試料の濃度を測定することを特徴とする平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項5】前記分子認識機能及び情報変換機能を有する膜が、酵素を固定化した膜であることを特徴とする請求項1～4のいずれか一に記載の平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項6】前記分子認識機能及び情報変換機能を有する膜が、酵素と補酵素を含有する膜であることを特徴とする請求項1～4のいずれか一に記載の平面光導波路型

## バイオケミカルセンサ。

【請求項7】前記分子認識機能及び情報変換機能を有する膜が、酵素と色素を含有する膜であることを特徴とする請求項1～4のいずれか一に記載の平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

【請求項8】前記分子認識機能及び情報変換機能を有する膜が、イオン感受性色素を固定化した膜であることを特徴とする請求項1～4のいずれか一に記載の平面光導波路型バイオケミカルセンサ。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明が属する技術分野】本発明は、バイオケミカルセンサに関し、特に試料溶液中に含まれる物質の濃度を測定するバイオケミカルセンサに関する。

## 【0002】

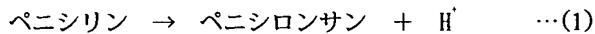
【従来の技術】従来、試料溶液中に含まれる物質の濃度を高感度で測定するセンサとして、オプティカルバイオケミカルセンサが提案されている。一例として文献（相澤益男、“オプティカル化学センサ”、電気化学、第59巻、第930～936頁、1991年、DENKI KAGAKU, 59 (1991) p. 930-936）によれば、オプティカルバイオケミカルセンサは、測定対象物質を分子認識材料で認識し、その変化を屈折率、反射率、吸収、蛍光、及び発光等の光学的変化として測定するという原理に基づいている。

【0003】例えば、分子認識材料として、酵素を用いたオプティカルセンサとして、ペニシリンを測定するセンサが文献（S. M. Angel et. al., “Development and Applications of Fiber Optic Sensors”, Chemical Sensor Technology, 3 (1991) p. 163-183、「1991年、ケミカルセンサテクノロジ」、第3巻、163頁～183頁）に提案されている。

【0004】図6に、従来のオプティカルセンサの構造を示す。

【0005】図6を参照して、直径 $250\text{ }\mu\text{m}$ の光ファイバ14の端面上に酵素ペニシリナーゼ15と蛍光色素フルオレセイン16が固定化されている。ペニシリナーゼ15は次式(1)の反応を触媒する。

## 【0006】



【0007】すなわち、試料溶液17中のペニシリンの濃度に対応して光ファイバ14上に水素イオン( $\text{H}^+$ )が生成される。

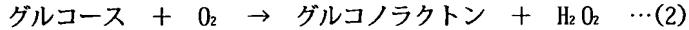
【0008】また、フルオレセイン16は水素イオン濃度によって、蛍光強度が変化する。

【0009】ここで、ペニシリナーゼ15は分子認識機能を果たし、フルオレセイン16は分子認識情報を光情報に変換する情報変換機能を果たしている。

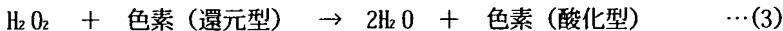
【0010】従って、フルオレセイン16の蛍光強度変化を測定することにより、溶液中のペニシリンの濃度を測定することが可能となる。

【0011】具体的には、アルゴンイオンレーザ光18(波長488nm)を励起光として光ファイバ14から照射し、フルオレセイン16から生じる蛍光19(波長520nm)の強度を不図示の光電子増倍管を使用して測定する。

【0012】また、蛍光ではなく吸光度測定に基づくオプティカルセンサとしてグルコースセンサが例えば文献(G.Guilbault and D.Schmis, "Electrochemical, Pie\*



【0015】また、酵素ペルオキシダーゼは酸化還元色素の存在下で以下の式(3)のように作用する。※



【0017】すなわち、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、及び色素が、光ファイバの端面上に固定化されており、試料溶液中のグルコース濃度に比例して色素(酸化型)の濃度が増加する。

【0018】従って、色素(酸化型)の濃度を測定することにより、試料中のグルコース濃度を求めることができる。

【0019】実際には、色素としてABTSを使用し、波長425nmの光を光ファイバから照射し、色素(酸化型)による吸収を測定することにより、色素(酸化型)の濃度を求めている。20

【0020】このセンサにおいては、グルコースオキシダーゼが分子認識機能を果たし、ペルオキシダーゼと色素とが情報変換機能を果たしていると考えることができる。

【0021】このようにオプティカルバイオケミカルセンサでは、分子認識機能及び情報変換機能を有する膜が、センサの応答に重要な役割を果たしている。そして、従来は、上記のように、光ファイバに基づくセンサが検討されてきた。30

【0022】しかし、光ファイバ型のセンサでは、微小なファイバ端面に酵素や色素等の分子認識機能及び情報変換機能を有する膜を均一に形成することは、技術的に困難であった。

【0023】そこで、光ファイバの替わりに平面光導波路を用いたバイオケミカルセンサが提案されている。

【0024】坑原-抗体反応を利用した免疫センサは、例えば特開平3-72236号公報や特開平4-15249号公報等において各種提案されており、酵素センサやイオンセンサとしては、特開平5-72134号公報に平面光導波路を用いた光導波路型バイオセンサの構成が提案されている。40

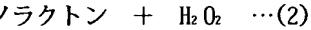
【0025】図7に、前記特開平5-72134号公報に開示された光導波路型バイオセンサの構成の例を示す。

【0026】図7を参照して、このバイオセンサは、ガラス基板20と、ガラス基板20の表面に形成された平面光導波路21(カリウムイオンとセシウムイオンが拡50

\* zoelectric and Fiber-Optic Biosensors", Advances in Biosensors, 1 (1991) pp. 258-289、「1991年、アドバンス・イン・バイオセンサ」、第1巻、第258~289頁)に提案されている。

【0013】酵素グルコースオキシダーゼは以下の式(2)のように作用する。

【0014】



散されて形成される)と、平面光導波路21の上に蒸着により形成された酸化タンゲステンの薄膜22と、酸化タンゲステン薄膜22を被覆する表面にパン酵母23が固定化されたテフロンメンプランフィルタ24と、から構成されている。

【0027】さらに、平面光導波路21の両端付近にはグレーティング25、26が形成されており、外部に配置された測定用のレーザ光を発するレーザ装置27と平面光導波路を透過したレーザ光の強度を測定する光センサ28と、酸化タンゲステン薄膜22に照射する紫外光源29と、が備えられている。

【0028】パン酵母23は試料溶液30中のグルコースを餌にしてエタノールを生産する。エタノールは還元物質であるため、酸化タンゲステン22を還元し、着色する。

【0029】この着色の程度は還元性物質の濃度に依存する。そこで、この着色の程度を測定するためにHe-Neレーザ(波長632nm)27を一端のグレーティング25から平面光導波路21内に導入し、他端のグレーティング26から出た光の強度を光センサ28により測定する。

【0030】光は平面光導波路21内を反射して伝搬するが、その際、エバネッセント波(evanescent wave)が生じる。エバネッセント波とは、光が導波路とその外部との界面にて全反射する時、その界面に発生し表面だけを伝わる電磁波をいい、その距離は導波路表面から波長程度(1μm以下)である。そして、このエバネッセント波が導波路表面に接している酸化タンゲステン22の着色により吸収され、光強度が減少する。

【0031】従って、この光吸収を測定することにより、試料溶液30中のグルコース濃度を求めることができる。また、酸化タンゲステン22に紫外光源29を照射することにより効率良く着色させることができる。

【0032】このように、平面光導波路型バイオケミカルセンサは、スピンドル技術あるいはフォトリソグラフィ技術等を使用して、容易に均一な分子認識機能及び情報変換機能を有する膜を大量に形成することが可能である。

【0033】また、平面光導波路は適切な材料や構造のもとに作製することにより、非常に高感度な測定を実現することが可能である。

【0034】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、図7に示す従来の光導波路型バイオセンサにおいては、グルコースを測定するために分子認識機能としてパン酵母を用いている。

【0035】パン酵母は微生物であり、その活性を一定に保つことは困難であり、このため、センサの感度も不安定である。

【0036】また、図7に示す従来の光導波路型バイオセンサにおいては、分子認識情報を光情報に変換する機能として、酸化タンゲステンを用いているが、感度を向上させるために外部から紫外光を照射する必要がある。

【0037】このように、従来の平面光導波路を用いたバイオケミカルセンサにおいては、分子認識機能としてパン酵母を用いていたため一定の活性を得ることが困難であり、センサの感度の安定化が困難であるという問題を有し、また情報変換機能として酸化タンゲステンを用いているため、紫外光を外部から照射して効率を上げる必要があった。

【0038】従って、本発明は上記従来技術の問題点を解消し、高感度かつ高精度な平面光導波路型バイオケミカルセンサを提供することを目的とする。

【0039】

【課題を解決するための手段】前記目的を達成するため、本発明は、基板と、該基板上の両端部に形成されたグレーティングと、該基板上に形成された光導波路層と、該光導波路層の上に形成された分子認識機能及び情報変換機能を有する膜と、を含み、前記グレーティングを通して前記光導波路層内に導入された光により発生するエバネッセント波の前記光導波路層表面の前記膜による吸収量を測定することを特徴とする、平面光導波路型バイオケミカルセンサを提供する。

【0040】本発明においては、前記グレーティングを通して前記光導波路層内に導入された光により発生するエバネッセント波によって前記光導波路層表面の前記膜より生じる蛍光の強度を測定するように構成してもよい。

【0041】本発明によれば、平面光導波路上に分子認識機能及び情報変換機能として、酵素、補酵素、もしくは色素を含有する膜を形成し、光導波路表面と膜の界面において光が全反射する際に生じるエバネッセント波の前記膜により吸収量（従って光導波路からの出力光の光\* グルコース + FAD → グルコノラクトン + FADH<sub>2</sub> …(4)

【0052】ここで、FADはフラビンアデニンジヌクレオチド（酸化型）、FADH<sub>2</sub>はフラビンアデニンジヌクレオチド（還元型）を示し、グルコースオキシダーゼ内に存在する補欠分子族であり、上式(4)から明からなよう

\* 強度）に基づき、前記膜における酵素等の減少量を求め、これにより、試料溶液中の試料濃度を求めるようにしたことにより、センサの高精度化及び高感度化が実現できる。また、本発明においては、前記膜による蛍光の強度を測定することによっても、試料溶液中の試料濃度を高精度且つ高安定に求めることができる。

【0042】

【発明の実施の形態】本発明の実施の形態を図面を参照して以下に説明する。

【0043】

【実施形態1】図1は、本発明の一実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図であり、グルコース濃度の測定例を示している。

【0044】図1を参照して、基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端に第1、第2のグレーティング3、4が形成されている。

【0045】基板1は、主にガラスや合成石英が用いられる。光導波路層2は、好ましくは、スパッタ法やCVD（化学気相堆積）法により形成された窒化シリコン、酸化アルミニウム、酸化タンタル、酸化亜鉛、酸化チタン等の膜、もしくはイオン交換法により作製されたガラス膜が用いられ、その屈折率が基板1の屈折率よりも大きいことが条件とされる。

【0046】第1及び第2のグレーティング3、4は、好ましくはピッチ1μmで、フォトリソグラフィにより形成される。

【0047】光導波路層2の表面には酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5が形成されている。

【0048】図1に示すように、アルゴンレーザ光源6より波長488nmの光が所定の角度で第1のグレーティング3に入射する。入射した光は光導波路層2内を伝搬し、酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5により吸収され、他端の第2のグレーティング4から出射する。前記の如く、光は平面光導波路層2内を反射して伝搬する際、エバネッセント波（evanescent wave）が生じる。そして、エバネッセント波が光導波路層2表面に接している酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5により吸収され光強度が減少する。

【0049】この出射光の光強度を受光素子7によって測定する。

【0050】試料溶液9中のグルコースは、酵素グルコースオキシダーゼ固定化膜5中で以下の式(4)のように反応する。

【0051】

グルコース + FAD → グルコノラクトン + FADH<sub>2</sub> …(4)  
に、グルコースの濃度に対応してFADがFADH<sub>2</sub>に変換される。

【0053】FADは波長450nm付近に特徴的な吸収を示す。従って、本実施形態に係る平面光導波路型バイオケ

ミカルセンサにより、出射した光の強度を測定することにより、FADの量を求めることができ、FADの減少量から試料溶液9中のグルコース濃度を決定することができる。

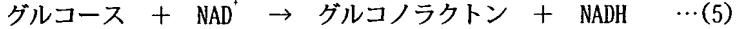
【0054】従来のオプティカルグルコースセンサの測定限界は10mg/dl程度であったが、本実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサによれば、0.01mg/dlを達成した。

【0055】さらに、連続100回測定して、C.V.値(変動係数)は2.0%を達成した。本実施形態により得られる、このような高精度は、従来例のように分子認識機能としてパン酵母を使用していたセンサでは、実現することは到底不可能である。

【0056】また、FADは450nmの光を励起光として蛍光を生じるが、FADH<sub>2</sub>は蛍光を生じない。

【0057】従って、本実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサにおいて、受光素子8により蛍光強度を測定することにより、試料溶液9中のグルコース濃度を測定することが可能となる。

【0058】FADもしくはフラビンモノヌクレオチドのような補欠分子族は、グルコースオキシダーゼの他にアルコールオキシダーゼや乳酸オキシダーゼなどの多数の酸化酵素に含まれており、これらの酵素を使用することによりグルコースセンサと同様にアルコールや乳酸濃度\*



【0065】ここで、NADHはニコチニアミドジヌクレオチド還元型である。

【0066】上式(5)から明らかなように、グルコースの濃度に対応して、ここではNAD<sup>+</sup>がNADHに変換される。

【0067】NADは波長340nm付近に特徴的な吸収を示す。従って、本実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサにより出射した光の強度を測定することにより、NADの量を求めることができ、最終的に試料溶液9中のグルコース濃度を決定することができる。

【0068】酵素の種類によっては、NADの替わりにニコチニアミドアデニンジヌクレオチドリン酸酸化型(NADP<sup>+</sup>)を補酵素とするものもあるが、NADP<sup>+</sup>やNAD<sup>+</sup>と同様に340nmの波長の光を吸収する性質があり、全く同様に、本実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサにて測定することが可能である。

【0069】また、NAD<sup>+</sup>及びNADP<sup>+</sup>は励起光(360nm)を照射することにより蛍光(460nm)を生じるが、NADH及びNADPHは蛍光を生じない。

【0070】従って、本実施形態に係るバイオセンサにおいて、受光素子8により蛍光強度を測定することにより、試料溶液中のグルコース濃度を測定することが可能である。

【0071】NAD<sup>+</sup>やNADP<sup>+</sup>のような補酵素はグルコースデヒドロゲナーゼの他に乳酸デヒドロゲナーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ等の多数の酵素とカップリングす

\*を測定することが可能である。

【0059】

【実施形態2】図2は、本発明の第2の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図であり、グルコース濃度の測定例を示している。

【0060】図2を参照して、基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端に第1、第2のグレーティング3、4が形成されている。

【0061】光導波路層2の表面には酵素グルコースデヒドロゲナーゼ及び補酵素ニコチニアミドアデニンジヌクレオチド酸化型(NAD<sup>+</sup>)を含有する膜10が形成されている。

【0062】光源6より波長340nmの光が一定の角度で第1のグレーティング3に入射する。入射した光は光導波路層2内を伝搬し、酵素グルコースデヒドロゲナーゼ及び補酵素NAD<sup>+</sup>を含有する膜10に吸収され、他端の第2のグレーティング4から出射する。この出射光の光強度を受光素子7により測定する。

【0063】試料溶液9中のグルコースは、グルコースデヒドロゲナーゼの作用により膜10中で以下の式(5)のように反応する。

【0064】

【実施形態3】図3は、本発明の第3の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図であり、グルコース濃度の測定例を示している。

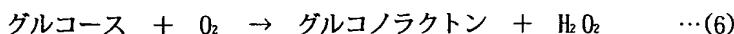
【0073】図3を参照して、基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端に第1及び第2のグレーティング3、4が形成されている。

【0074】光導波路層2の表面には酵素グルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼ及び色素ABTS、すなわち2,2'-アジノービス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルフォニックアシッド)(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid))を含有する膜11が形成されている。

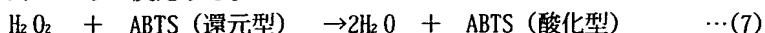
【0075】光源6より波長425nmの光が一定の角度で第1のグレーティング3に入射する。入射した光は光導波路層2内を伝搬し、酵素グルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼ及び色素ABTSを含有する膜により吸収されて、他端の第2のグレーティング4から出射する。この出射光の光強度を受光素子7により測定する。

【0076】試料溶液9中のグルコースはグルコースオキシダーゼの作用により膜11中で次式(6)のように反

応する。



【0078】生成した過酸化水素 $\text{H}_2\text{O}_2$ はペルオキシダーゼとABTSの存在下で次式(7)のように反応する。※



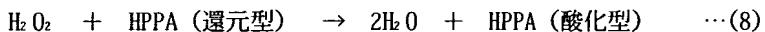
【0080】ABTS(酸化型)は波長425nm付近に特徴的な吸収を示す。従って、上記平面光導波路型バイオケミカルセンサにより、出射した光の強度を測定することにより、ABTSの濃度を求めることが可能で、最終的に試料溶液9中のグルコース濃度を決定することができる。

【0081】このように $\text{H}_2\text{O}_2$ を生成する酵素は、グルコースオキシダーゼの他に乳酸オキシダーゼ、アルコールオキシダーゼなどの多数の酵素が知られており、これらの酵素を使用することによりグルコースと同様に乳酸やアルコールを測定することができる。

【0082】 $\text{H}_2\text{O}_2$ とカップリングする酸化還元色素はABTSの他にもアミノアンチビリンとフェノールがあり、光の波長を選択すれば同様に測定することができる。

【0083】

【実施形態4】図4は、本発明の第4の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図であり、グルコース濃度★



【0089】HPPA(酸化型)は蛍光を生じるので、平面光導波路型バイオケミカルセンサにより、蛍光強度の変化を測定することにより、溶液中のグルコースの濃度を測定することができる。

【0090】

【実施形態5】図5は、本発明の第5の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図であり、水素イオン濃度(pH)測定例を示している。

【0091】図5を参照して、基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端に第1、第2のグレーティング3、4が形成されている。

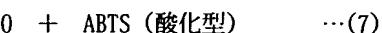
【0092】光導波路層2の表面には水素イオン感受性色素BCECF $2'$ 、 $7'$ -ビス(カルボキシエチル)-4オア5-カルボキシフルオレセイン( $2',7'$ -Bis(carboxyethyl)-4 or 5-carboxyfluorescein)を含有する膜13で形成されている。

【0093】光源6より波長488nmのアルゴンイオンレーザ光が一定の角度で第1のグレーティング3に入射する。入射した光は光導波路層2内を伝搬し、水素イオン感受性色素BCECFを含有する膜に吸収されて、他端の第2のグレーティング4から出射する。この出射光の光強度を受光素子7により測定する。

【0094】BCECFの波長488nmにおける吸収は、試料溶液9中の水素イオン濃度によって変化するので、平面光導波路型バイオケミカルセンサにより光強度を測定することにより水素イオン濃度を求めることが可能である。

【0078】

※



★の測定例を示している。

【0084】図4を参照して、基板1上に光導波路層2が形成されており、その両端に第1、第2のグレーティング3、4が形成されている。

【0085】光導波路層2の表面には酵素グルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼ及び色素HPPA(3-(4-Hydroxyphenyl)propionic acid)を含有する膜12が形成されている。

【0086】光源6より波長488nmの光が一定の角度でグレーティング3に入射する。入射した光は光導波路層2内を伝搬するが、この光を励起光として膜12から蛍光を生じる。この蛍光強度を受光素子8により測定する。試料溶液9中のグルコースは膜12中で上式(6)の反応により $\text{H}_2\text{O}_2$ が生成する。

【0087】次に、ペルオキシダーゼは酸化還元色素であるHPPAの存在下で以下の式(8)のように作用する。

【0088】



【0095】また、BCECFの蛍光強度は試料溶液中のpHによって変化する。すなわち、上記センサにおいて波長488nmのアルゴンイオンレーザ光を励起光として照射し、波長535nmの蛍光強度を受光素子8により測定することにより、試料溶液の水素イオン濃度を測定することができる。

【0096】水素イオン感受性色素BCECF以外にも、Quene 1-8-アミノ-2-(トランス-2-アミノスチリル)-6-メトキシキノリン-N, N, N', N'-テトラアセチックアシッド、テトラポタシウムソルト(8-Amino-2-(trans-2-aminostyryl)-6-methoxyquinoline-N, N, N', N'-tetraacetic acid, tetrapotassium salt), HPTS, NERF, SNAFL, SNARF等数多く知られているが、使用する光源の波長を選択することにより、BCECFと同様に平面光導波路型バイオケミカルセンサにより水素イオン濃度測定を実現することができる。

【0097】水素イオンの他に、例えばカルシウムイオンに感受性のある色素としてFluo 31, [2-アミノ-5-(2,7-ジクロロ-6-ヒドロキシ-3-オキシ-9-ザンセニル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-テトラアセチックアシッド(1-[2-Amino-5-(2,7-dichloro-6-hydroxy-3-oxy-9-xanthenyl)phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy)ethane-N, N, N', N'-tetraacetic acid)が知られているが、水素イオンの場合と同様に平面光導波路型バイオケミカルセンサによりカルシウムイオン濃度の測定を実現することができる。

## 【0098】

【発明の効果】以上説明したように、本発明に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサは、平面光導波路上に分子認識機能及び情報変換機能として、酵素もしくは補酵素もしくは色素を含有する膜を形成するようにしたことにより、センサ応用の高精度化及び高感度化が実現できるという効果がある。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図である。

【図2】本発明の第2の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図である。

【図3】本発明の第3の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図である。

【図4】本発明の第4の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図である。

【図5】本発明の第5の実施形態に係る平面光導波路型バイオケミカルセンサの構成を説明するために断面を模式的に示した図である。

【図6】従来の光ファイバ型バイオセンサの一例を説明するための図である。

【図7】従来の平面光導波路型バイオセンサの一例を説明するための図である。

## 【符号の説明】

1 基板  
2 光導波路層

\* 3 グレーディング

4 グレーディング

5 グルコースオキシダーゼ固定化膜

6 光源

7 受光素子

8 受光素子

9 試料溶液

10 グルコースデヒドロゲナーゼとNADを含有する膜  
11 グルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼとAB

10 TSを含有する膜

12 グルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼとHP  
PAを含有する膜

13 BCECFを含有する膜

14 光ファイバ

15 ペニシリナーゼ

16 フルオレセイン

17 試料溶液

18 アルゴンイオンレーザ光

19 蛍光

20 ガラス基板

21 平面光導波路

22 酸化タングステン薄膜

23 パン酵母

24 テフロンメンブレン

25 グレーディング

26 グレーディング

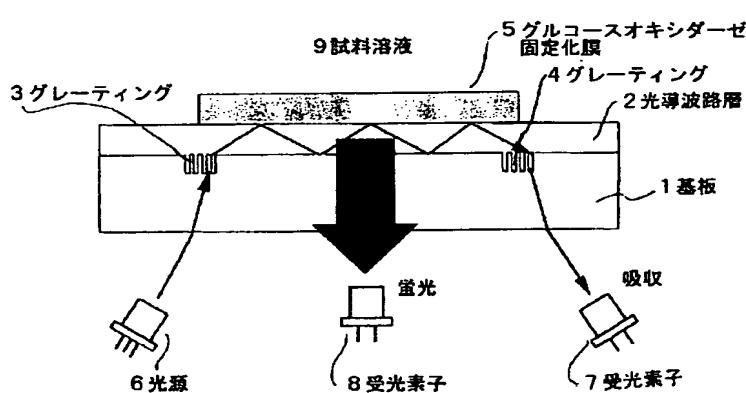
27 レーザ装置

28 光センサ

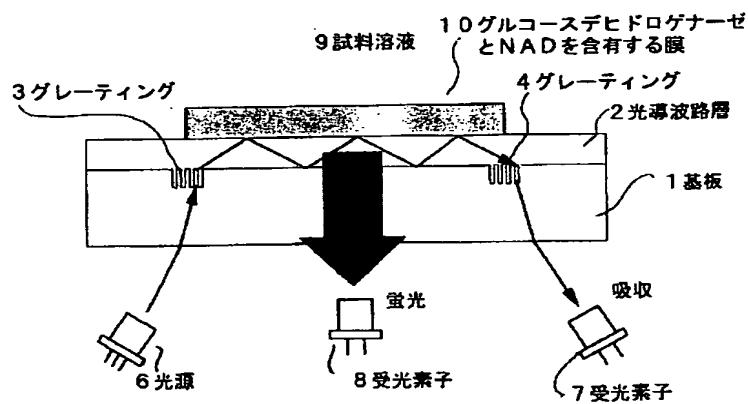
29 紫外光源

\* 30 30 試料溶液

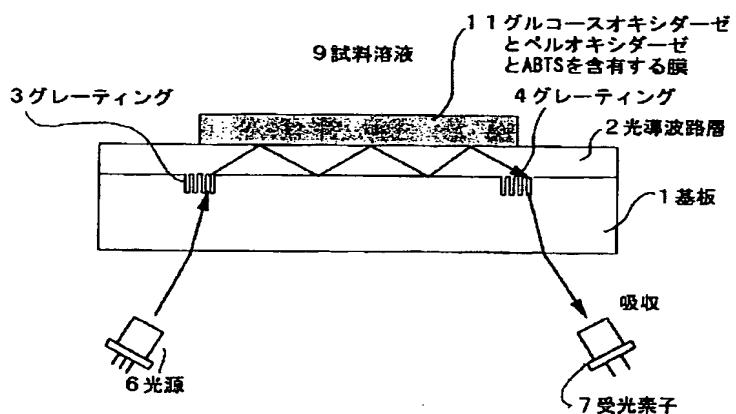
【図1】



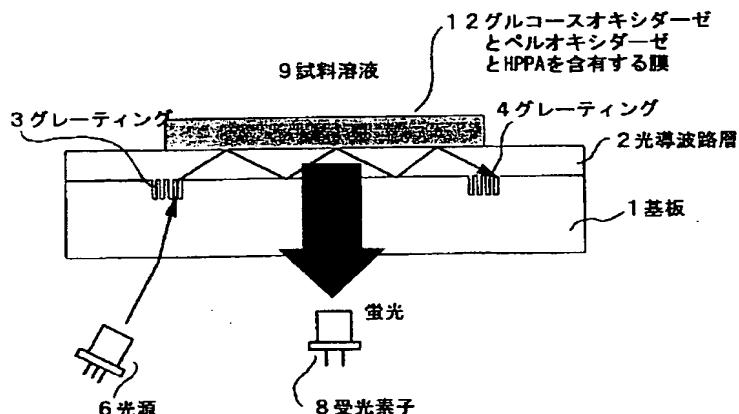
【図2】



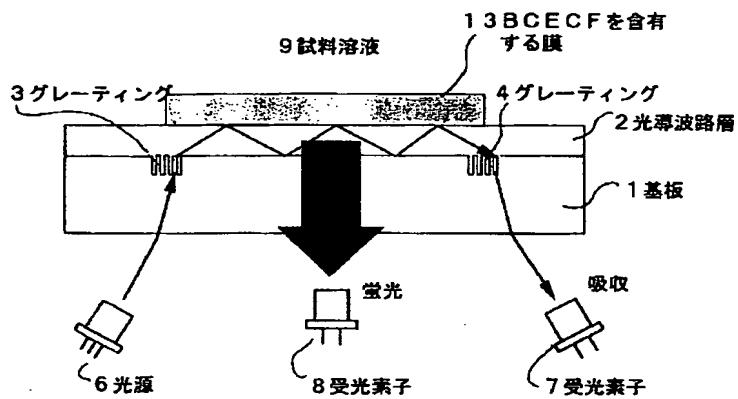
【図3】



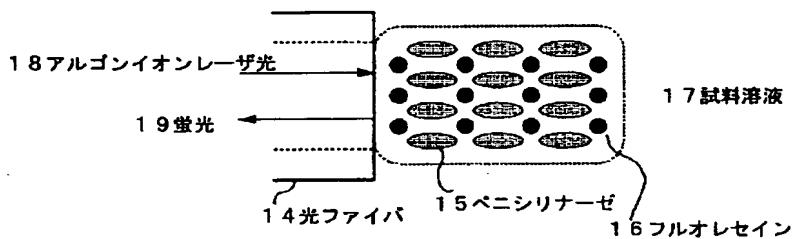
【図4】



【図5】



【図6】



【図7】

